

マイコプラズマ滑走タンパク質 Gli349 の立体構造解析 Structural Analysis of the Gliding Protein Gli349 from *Mycoplasma mobile*

林勇樹^{1,2}, 野村芳弘², 和田愛未¹, 浜口祐³, 高森綾³, 宮田真人³, 新井宗仁^{1,2,*}

¹ 東京大学大学院総合文化研究科, 〒153-8902 目黒区駒場 3-8-1

² 東京大学教養学部統合自然科学科, 〒153-8902 目黒区駒場 3-8-1

³ 大阪市立大学大学院理学研究科, 〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138

Yuuki Hayashi^{1,2}, Yoshihiro Nomura², Manami Wada¹, Tasuku Hamaguchi³, Aya Takamori³,
Makoto Miyata³, Munehito Arai^{1,2,*}

¹Dept. of Life Sciences, The University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro, Tokyo 153-8902, Japan

²Dept. of Integ. Sciences, The University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro, Tokyo 153-8902, Japan

³Dept. of Biology, Osaka City University, 3-3-138 Sugimoto, Sumiyoshi-ku, Osaka 558-8585, Japan

1 はじめに

マイコプラズマの滑走運動は新規の運動様式であり、そのメカニズムの解明が重要課題である。この運動は、Gli349 タンパク質が「足」のように機能し、構造変化することによって起きる [1]。しかし、Gli349 の運動機構を明らかにするためには、Gli349 の詳細な立体構造の解明が必要である。Gli349 は 18 個のリピート構造を持ち [2]、フレキシブルな巨大なタンパク質であるため [3]、X 線結晶構造解析による構造決定は難しい。しかし、適切に断片化した Gli349 タンパク質の断片ならば、X 線溶液散乱法で立体構造解析が可能と期待される。そこで本研究では、X 線溶液散乱法を用いて、Gli349 断片の立体構造解析を行った。

2 実験

タンパク質のアミノ酸配列から可溶性やドメイン境界を予測する種々のサーバーを用いて、Gli349 を断片化したタンパク質のコンストラクトを 33 種設計し、大腸菌で発現させた後、ゲル濾過クロマトグラフィーで高純度精製を試みた。その結果、I(HD) と O(HD) の 2 種類のコンストラクトについて可溶性のタンパク質断片が精製できた。

一方、以前の研究により、Gli349 の K, L, M リピートに相当する領域からなる KLM 断片が得られている。これをトリプシンで限定分解した結果に基づいて、KLM をさらに短くした 3 種類の断片 (KLM1, KLM2, KLM3) を作製した。

これらの試料の X 線溶液散乱の測定は、高エネルギー加速器研究機構・放射光科学研究施設 BL-10C で行った。カメラ長は 2 m、波長は 1.5 Å 程度、検出器は PILATUS を用いた。試料の凝集体形成を防ぐために、必要に応じてフローセルや HPLC を用いて SAXS 測定を行った。得られた散乱曲線は SAngler と ATSAS パッケージを用いて解析した。

3 結果および考察

Gli349 のタンパク質断片である I(HD) と O(HD) について X 線溶液散乱の測定を行った結果、どちらもほぼ同程度の分子サイズを持ち、類似の分子形状を有することがわかった。これらの可溶性断片は、ドメインの境界にヘリックス構造がある場合のドメイン境界を予測するプログラム H-DROP に基づいて作製したものであった。したがって、Gli349 のドメイン境界のいくつかはヘリックス構造を形成していると考えられる。このことは、Gli349 の全体構造が一方に伸びた形状をしていることと矛盾しない。また、X 線散乱データからモデリングしたこれらの断片の概形構造は、立体構造予測で得た構造と類似しており、断片化ドメインでは N 末端と C 末端が反対側にあつて、天然タンパク質よりもやや広がった構造をとることが示唆された。

次に、Gli349 の KLM 断片をさらに短くした 3 種類の断片 (KLM1, KLM2, KLM3) の X 線溶液散乱測定を行った結果、KLM が 3 つの球状ドメインから構成されていることを支持する結果が得られた。また、各リピートの境界となる位置が、理論的に予測されたリピート境界 [2] から約 36 残基ずれている可能性が示唆された。

謝辞

高エネルギー加速器研究機構の清水伸隆先生には大変お世話になりました。この場をお借りして感謝申し上げます。

参考文献

- [1] Miyata, *Annu. Rev. Microbiol.* **64**, 519 (2010).
- [2] Metsugi *et al.*, *BIOPHYSICS*, **1**, 33 (2005).
- [3] Adan-Kubo *et al.*, *J. Bacteriol.* **188**, 2821 (2006).

* arai@bio.c.u-tokyo.ac.jp